

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG
(*Areca catechu* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***



**JENRI SUTRISNO
NIM 111110037**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2014**

LEMBAR PENGESAHAN

NASKAH PUBLIKASI

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

JENRI SUTRISNO

111110037

DISETUJUI OLEH,

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Hj. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt.

NIP. 198111012008012011

dr. Mitra Handini, M.Biomed

NIP. 198509082009122005

PENGUJI I

PENGUJI II

dr. Agung Nugroho, M.Sc., Sp.PD

NIP. 197004052001121002

dr. Delima Fajar Liana

NIP. 198602112012122003

MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA

dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD

NIP. 195112181978111001

ANTIBACTERIAL ACTIVITY DETERMINATION OF ETHANOLIC EXTRACTS OF ARECA NUT (*Areca catechu* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* IN VITRO

Jenri Sutrisno¹, Sri Wahdaningsih², Mitra Handini³

ABSTRACT

Background: Areca nut potential as antibacterial need scientific studies as consideration for maximal and directional exploration.

Objective: The objective was to confirm the antibacterial activity, to know the chemical compounds and to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ethanolic extract of Areca nut.

Methods: Ethanolic extract of Areca nut was made from maceration process by using ethanol 96%. Antibacterial activity assays was performed using Kirby-Bauer disc diffusion method against *Staphylococcus aureus* in vitro. Ethanolic extract of Areca nut was diluted in 10 % DMSO to 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3% concentrations. Chloramphenicol and 10% DMSO were also used as control solutions.

Result: The result showed that the phytochemical of Areca nut extract contains phenols, flavonoids, tannin, saponins, triterpenoids, glycosides and alkaloids. Antibacterial activity was reflected by the diameter of the zone of inhibition around the disc with the average zone of inhibition obtained from concentrations 2%; 2,5%; 3% in a row was 7,37 mm; 8,56 mm; 11,22 mm.

Conclusion: Ethanolic extract of Areca nut has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* in vitro with minimum inhibitory concentration (MIC) was 2%.

Key words: antibacterial, Areca nut ethanolic extract, *Staphylococcus aureus*

-
- 1) Medical School, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan
 - 2) Study Program of Pharmacy, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan
 - 3) Departement of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG
(*Areca catechu* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

Jenri Sutrisno¹, Sri Wahdaningsih², Mitra Handini³

ABSTRAK

Latar Belakang: Potensi pinang sebagai antibakteri perlu kajian ilmiah sebagai pertimbangan untuk eksplorasinya secara maksimal dan terarah.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan aktivitas antibakteri, mengetahui kandungan senyawa, serta memperoleh konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol biji pinang.

Metodologi: Ekstrak etanol biji pinang diperoleh dari proses maserasi dengan etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer terhadap *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak etanol biji pinang yang digunakan terdiri dari konsentrasi 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3%. Kontrol yang digunakan adalah kloramfenikol (kontrol positif) dan DMSO 10% (kontrol negatif).

Hasil: Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pinang mengandung fenol, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, glikosida dan alkaloid. Pengaruh pemberian ekstrak etanol biji pinang terhadap *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 2%; 2,5%; 3% secara berurutan dengan rerata diameter sebesar 7,37 mm; 8,56 mm; 11,22 mm.

Kesimpulan: Ekstrak etanol biji pinang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan konsentrasi hambat minimum adalah 2%.

Kata Kunci: antibakteri, ekstrak etanol biji pinang, *Staphylococcus aureus*

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat
- 3) Departemen Fisiologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi akibat bakteri merupakan salah satu masalah besar tidak saja di Indonesia, tetapi juga di seluruh dunia.¹ Bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi pada manusia dalam komunitas maupun secara nosokomial adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).² Bakteri *S. aureus* merupakan patogen piogenik yang secara umum menyebabkan infeksi nosokomial pada luka bedah, sedangkan dalam komunitas menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi saluran pernapasan, endokarditis infektif serta akne vulgaris.^{3,4}

Penggunaan obat antibakteri untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri sekarang sudah cukup banyak, namun masalah yang dihadapi sekarang adalah terjadinya efek samping bagi penggunaannya, seperti diare, alergi, hingga bahaya toksik lainnya, serta konsumsi biaya perawatan yang tinggi.⁵ Banyaknya kasus infeksi akibat bakteri, timbulnya efek samping penggunaan obat antibakteri, serta konsumsi biaya perawatan yang tinggi menunjukkan perlu dilakukannya penelitian untuk mengembangkan antibakteri baru khususnya dari bahan alam.⁶

Bahan alami seperti biji pinang merupakan sumber potensial yang memiliki senyawa metabolit yang mempunyai efek antibakteri. Penggunaan biji pinang sebagai obat tradisional sudah dikenal lama oleh penduduk Kalimantan, seperti air rebusan dari biji pinang digunakan untuk mengatasi penyakit seperti kudis, difteri, cacingan dan disentri oleh masyarakat di desa Semayang, Kutai, Kalimantan Timur dan obat sakit mata oleh masyarakat suku Dayak Kendayan, Kecamatan Air Besar, Kalimantan Barat.⁷

Penelitian Asdyakasa (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pinang memiliki efektivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara dilusi tabung *in vitro* menunjukkan potensi konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 1,5%.⁸ Aktivitas antibakteri yang terdapat pada biji pinang serta keterbatasan eksplorasi sebagai

antibakteri pada biji pinang yang tumbuh di Kalimantan Barat menjadi dasar dilakukannya uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap bakteri *S. aureus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) *in vitro* menggunakan rancangan acak lengkap faktorial yang dilakukan pada dua tempat yakni Laboratorium Teknologi Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Universitas Tanjungpura untuk proses ekstraksi biji pinang dan Laboratorium Mikrobiologi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol biji pinang terhadap bakteri *S. aureus*. Penelitian dilaksanakan mulai bulan September 2013 hingga bulan Juli 2014.

Konsentrasi ekstrak etanol biji pinang yang digunakan yaitu 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3% b/v. Kontrol yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol 30µg/disk dan kontrol negatif DMSO 10%.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain biji pinang, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, kertas saring Whatman no.1, kloramfenikol 30 µg/disk (Oxoid[®]), etanol 96% (Merck[®]), media *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid[®]), media *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid[®]), media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (Oxoid[®]), media Agar Darah (Oxoid[®]) standar Mc. Farland no. 0,5 (E Merck[®]) dan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9% (Merck[®]).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *blender* laboratorium, *vacuum rotary evaporator* (Yamato[®]), *water bath* (Memmert[®]), oven (memmert[®]), inkubator, *Biological Safety Cabinet* (BSC) (Nuaire[®]), *laminar air flow* (LAF) (Telstar[®] AV 100), *autoclave*

(Hiclave HVE-50[®]), jangka sorong digital (Mitutoyo[®]), mikroskop (Olympus[®] CX 21), tip dan mikropipet (Boeco[®]).

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah biji pinang yang diambil pada saat buah pinang matang ditandai dengan kulit buah berwarna kuning kecoklatan serta konsistensi buah yang keras. Biji pinang dikumpulkan, disortasi basah, dipisahkan dari buahnya, dicuci, dirajang, dikeringkan di oven pada suhu 60⁰C, kemudian simplisia disortasi kering, selanjutnya dijadikan serbuk dengan menggunakan *blender* dan dilakukan pengepakan dan penyimpanan. Sampel buah pinang diperoleh dari Jalan Wonodadi I Gang H.M. Yasir, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Sampel buah pinang disimpan dalam kantong plastik kering yang selanjutnya disimpan pada suhu ruang.

Ekstraksi Serbuk Simplisia

Simplisia sebanyak 532,5 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 liter selama 5x24 jam. Hasil maserat selanjutnya disaring dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 55⁰C. Ekstrak hasil evaporasi diuapkan kembali dengan *water bath* sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental hasil evaporasi disimpan dalam wadah kaca yang dilapisi aluminium foil.

Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

Pemeriksaan karakteristik ekstrak, meliputi penetapan susut pengeringan dan penetapan kadar sari yang larut dalam etanol.

Skrining Fitokimia Ekstrak

Pemeriksaan fitokimia yang dilakukan meliputi pemeriksaan alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, glikosida dan steroid/triterpenoid.

Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak Etanol Biji Pinang

Variasi konsentrasi larutan uji ekstrak etanol biji pinang terdiri dari konsentrasi 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3% b/v. Konsentrasi dibuat dengan terlebih dahulu membuat larutan stok 5% yaitu menimbang 2,5

gram ekstrak yang dilarutkan dalam 50 mL DMSO 10%. Konsentrasi DMSO 10% dibuat dengan cara DMSO dipipet sebanyak 10 mL dan ditambahkan akuades sebanyak 90 mL.

Pembuatan Media

Media MSA dibuat dengan cara 111 gram media dilarutkan dengan 1 L akuades sambil dipanaskan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*) selama 15 menit.⁹ Media MHA dibuat dengan cara 38 gram media dilarutkan dengan 1 L akuades sambil dipanaskan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*) selama 15 menit.⁹ Media agar darah dibuat dengan cara 40 gram media dilarutkan dengan 1 L akuades sambil dipanaskan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*) selama 15 menit, setelah diautoklaf, dinginkan agar hingga suhu 50°C dan tambahkan darah kuda sebanyak 7%.⁹ Media miring NA dibuat dengan melarutkan 2,3 gram agar NA ke dalam 100 ml akuades dan dipanaskan hingga larut sempurna, media diukur pHnya sehingga berada dalam kisaran 7, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 mL dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit, yang selanjutnya tabung dimiringkan dan didiamkan hingga memadat.⁹

Identifikasi Bakteri

Identifikasi umum dilakukan dengan pewarnaan Gram. Bakteri uji yang sudah terfiksasi pada *object glass* ditetesi dengan *carbol gentian violet* selama 60 detik, setelah itu dicuci dengan akuades. *Object glass* ditetaskan larutan lugol selama 60 detik, setelah itu dicuci dengan akuades. Warna dibuang dengan meneteskan larutan alkohol 96% sampai tidak ada warna violet lagi pada sediaan dan sediaan dicuci dengan akuades sampai bersih. Sediaan ditetaskan kembali dengan larutan fuchsin dan dibiarkan selama 45 detik, setelah itu preparat dicuci lagi

dengan akuades, dikeringkan dan diperiksa dibawah mikroskop. Bakteri Gram positif berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah.¹⁰

Identifikasi khusus dilakukan dengan cara bakteri *S. aureus* dari media peremajaan diambil menggunakan jarum Ose kemudian digoreskan ke dalam permukaan media MSA dan Agar Darah, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji positif apabila terbentuk koloni berwarna kuning keemasan pada MSA dan terbentuk zona hemolitik pada agar darah.¹¹

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Kultur murni dari bakteri *S. aureus* yang telah diremajakan, disuspensikan ke dalam 10 mL larutan salin steril, dihomogenkan dan disetarakan dengan standar McFarland 0,5 untuk memperoleh suspensi inokulum yang sesuai standar, yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/mL.¹²

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode *Disc Diffusion* (Tes Kirby-Bauer)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan di atas MHA. Setiap plat agar berisi 15-30 ml agar cair yang nantinya akan dipadatkan. Pertama-tama, serbuk agar dicampur dengan air sesuai ketentuan dan dipanaskan sambil diaduk hingga merata. Setelah rata, agar cair diberi tutup untuk menghindari terjadinya evaporasi dan diautoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Agar cair setelah sterilisasi didinginkan pada suhu ruang hingga suhu agar mencapai $\pm 50^\circ\text{C}$ untuk menghindari kondensasi uap pada petri yang selanjutnya agar dituang pada *plate* dengan posisi bagian tutup di bawah untuk menghindari kontaminasi bakteri.¹³ Setelah agar agak beku, dibalik perlahan dan selanjutnya disimpan sampai padat. Inokulasi bakteri pada agar MHA optimal dilakukan sekitar 15 menit setelah inokulum bakteri siap. Tahap awal yang dilakukan yakni kapasulas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri uji, kemudian diputar beberapa kali dan ditekan ke dinding tabung di atas cairan untuk menghilangkan inokulum yang berlebihan di kapas. Permukaan pada media agar MHA diinokulasikan

bakteri uji dengan mengulaskan kapas berisi suspensi bakteri di seluruh permukaan media. Prosedur ini diulangi sebanyak dua kali dengan pemutaran MHA setidaknya 60^0 supaya distribusi merata pada seluruh permukaan agar.¹⁴ Penggoresan terakhir dilakukan pada bagian tepi MHA.

Plat agar yang dipergunakan berukuran 100 mm. Plat agar dengan ukuran 100 mm tidak boleh berisi lebih dari 5 cakram dalam setiap plat agar.¹⁴ Cakram yang diletakkan pada plat MHA harus memiliki jarak minimal 24 mm dari masing-masing pusat cakram.¹⁴ Setiap cakram yang berisi larutan uji ditetaskan variasi konsentrasi larutan uji masing-masing sebanyak 20 μ L. Setelah keseluruhan proses selesai, cawan-cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu inkubasi 37°C selama 24 jam. Hasil inkubasi berupa daerah bening di sekitar cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri diinterpretasikan sebagai zona hambat.⁵

Parameter Pengamatan

Zona hambat yang terbentuk pada jam ke-24 dan ke-48 diukur menggunakan jangka sorong dan diinterpretasikan kekuatan zona hambatnya. Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak etanol biji pinang terendah ditentukan sebagai KHM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Serbuk Simplisia Biji Pinang

Ekstraksi serbuk simplisia biji pinang dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan penggantian pelarut setiap 1x24 jam. Pelarut digunakan sampai serbuk simplisia terendam semua. Ekstrak yang dihasilkan masih cair dan mengandung pelarut, sehingga diperlukan suatu teknik pemisahan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* yaitu suatu alat destilasi bertekanan. Prinsip kerja alat ini adalah memisahkan pelarut dari ekstrak pada suhu dan tekanan tertentu. Tekanan yang digunakan adalah 175 mbar pada suhu 40°C sebanyak 5000 putaran per menit (rpm)

yang dilakukan sesuai dengan prosedur spesifikasi alat khusus untuk pemisahan pelarut etanol.

Ekstrak hasil evaporasi masih belum mencapai konsistensi kental karena diperkirakan masih mengandung air dan sedikit pelarut. Oleh karena itu, ekstrak selanjutnya diuapkan diatas *water bath* dengan suhu 60°C sampai dicapai konsistensi kental.

Rendemen ekstrak kental biji pinang yang didapat adalah 22,058%. Ekstrak kental berwarna coklat tua dengan bau yang khas dan viskositas ekstrak tidak bisa mengalir.

Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

Hasil pemeriksaan susut pengeringan ekstrak diperoleh kadar air rata-rata ekstrak etanol biji pinang sebesar 11,4%. Hasil pemeriksaan kadar sari larut etanol diperoleh jumlah kadar sari yang larut etanol rata-rata 22,64%. Rata-rata hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak didapatkan dari pengulangan uji sebanyak tiga kali.

Skrining Fitokimia

Hasil penelitian menunjukkan hasil positif terhadap pemeriksaan fenol, flavonoid, saponin, glikosida, alkaloid, triterpenoid, tanin dan hasil negatif terhadap pemeriksaan steroid yang ditunjukkan pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Pinang

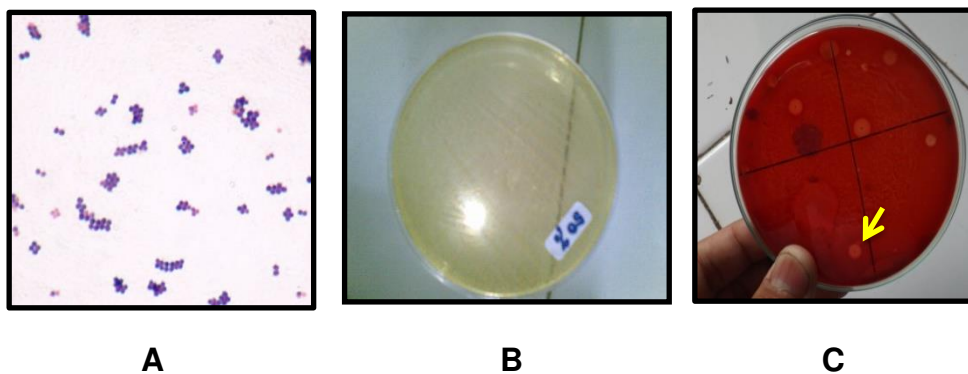
| Uji Fitokimia | Pereaksi | Perubahan Warna | Keterangan |
|---------------|--|--------------------------------------|------------|
| Alkaloid | Mayer | Endapan putih | + |
| | Wagner | Endapan coklat | + |
| Fenol | FeCl ₃ 3% | Warna hijau kehitaman | + |
| Tanin | FeCl ₃ 1% | Warna hijau kehitaman | + |
| | Gelatin 2% | Endapan putih | + |
| Flavonoid | Mg + HCl pekat | Warna kuning | + |
| | Zn + HCl 2N | Warna merah intensif | + |
| Saponin | Aquades panas | Busa setinggi ± 1 cm selama 30 detik | + |
| Steroid | n-Heksan + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat | Tidak berubah warna | - |
| Triterpenoid | n-Heksan + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat | Berubah warna menjadi merah | + |
| Glikosida | Lieberman Burchard | Berubah warna menjadi hijau | + |

Keterangan: (+) positif : mengandung golongan senyawa; (-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa.

Identifikasi Bakteri

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus. Berdasarkan hasil identifikasi khusus menggunakan media MSA dan Agar darah pada *S. aureus* memberikan pertumbuhan berwarna kuning keemasan pada MSA dan membentuk zona hemolitik pada agar darah. Gambaran hasil pewarnaan gram dan pertumbuhan *S. aureus* pada MSA dan Agar darah dapat dilihat dibawah ini.

Gambar 1. Hasil Identifikasi Umum dan Identifikasi Khusus Bakteri Uji



Keterangan:

- A. *Staphylococcus aureus* bakteri gram positif dengan bentuk kokus
- B. *Staphylococcus aureus* memberikan pertumbuhan kuning keemasan pada agar MSA
- D. *Staphylococcus aureus* membentuk zona hemolitik pada agar darah (panah kuning)

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan Metode *Disc Diffusion* Kirby-Bauer

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang dengan variasi konsentrasi 2%; 2,5%; 3% dan kontrol positif kloramfenikol menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus* yang ditandai terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang mengandung larutan uji dan kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memberikan zona hambatan. Hal tersebut membuktikan bahwa DMSO (pelarut yang digunakan untuk membuat variasi konsentrasi ekstrak) pada konsentrasi 10% tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri sehingga aktivitas hanya berasal dari larutan uji, bukan dari pelarut yang dipakai.

Gambar 2. Zona Hambat Pada Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*, KHM pada Konsentrasi 2% (Panah Hitam)



Rerata diameter zona hambat ekstrak secara keseluruhan pada *S. aureus* adalah 9,05 mm dengan standar deviasi 1,731. Berikut ini adalah data diameter zona hambat *S. Aureus* pada jam ke-24.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinang terhadap *Staphylococcus aureus*

| Konsentrasi larutan uji (%) | Diameter zona hambat (mm) | | | Rata-rata | Standar Deviasi |
|-----------------------------|---------------------------|-------|-------|-----------|-----------------|
| | I | II | III | | |
| 3 | 11,49 | 10,85 | 11,32 | 11,22 | 0,33 |
| 2,5 | 8,81 | 8,73 | 8,13 | 8,57 | 0,37 |
| 2 | 7,09 | 7,39 | 7,62 | 7,37 | 0,27 |
| 1,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Berdasarkan tabel di atas, menunjukkan KHM pada konsentrasi 2% karena merupakan konsentrasi terkecil dari ekstrak etanol biji pinang yang menghasilkan zona hambat. Apabila mengacu pada penggolongan kekuatan ekstrak menurut Monks *et al* (2002),¹⁵ kemampuan ekstrak etanol biji pinang dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 2%-2,5% tergolong aktivitas lemah dan pada konsentrasi 3% tergolong aktivitas sedang.

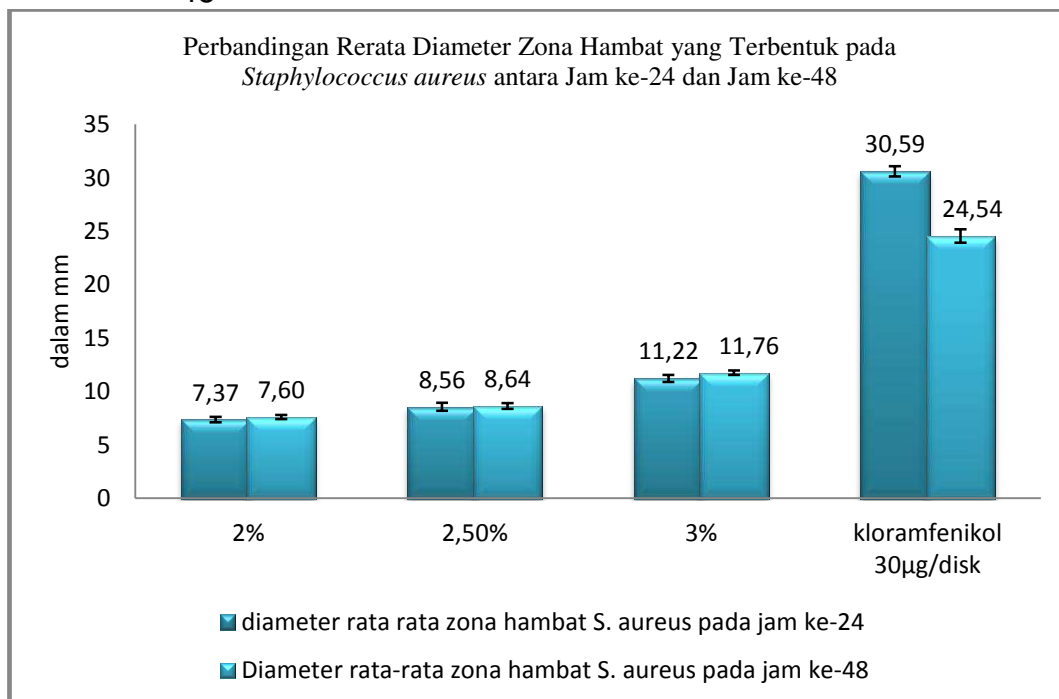
Tabel 3. Penggolongan Rerata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinang terhadap *S. aureus* Berdasarkan Monks *et al* (2002)¹⁵

| Konsentrasi Ekstrak (%) | Rerata Diameter Zona Hambat <i>S. aureus</i> (mm) (24 jam) | Kekuatan Ekstrak |
|-------------------------|--|---------------------|
| 0,5 | 0 | tidak ada aktivitas |
| 1 | 0 | tidak ada aktivitas |
| 1,5 | 0 | tidak ada aktivitas |
| 2 | 7,37 | aktivitas lemah |
| 2,5 | 8,57 | aktivitas lemah |
| 3 | 11,22 | aktivitas sedang |

Keterangan: 0 mm (tidak ada aktivitas); 7-11 mm (aktivitas lemah); 11-16 mm (aktivitas sedang); >16 mm (aktivitas kuat); diameter zona hambat merupakan diameter zona hambat pertumbuhan dan diameter kertas cakram; diameter kertas cakram adalah 6 mm; hasil rerata merupakan perhitungan untuk tiga replikasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi media uji, aktivitas antibakteri ekstrak semakin meningkat yang dapat dilihat dari peningkatan diameter zona hambat semua perlakuan konsentrasi pada *S. aureus* pada jam ke-48 (Gambar 2). Menurunnya rerata diameter zona hambat pada kloramfenikol diakibatkan karena sifat kerja kloramfenikol yang berikatan secara reversibel pada subunit 50S ribosom bakteri sehingga sifat kerjanya bakteriostatik.¹⁶

Gambar 2. Perbandingan Rerata Diameter Zona Hambat yang Terbentuk pada *Staphylococcus aureus* antara Jam ke-24 dan Jam ke-48



Brooks *et al.* (2013)³ menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Penelitian ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji pinang, semakin besar diameter zona hambat terhadap *S. aureus* sehingga dapat diasumsikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin besar sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel bakteri dengan mekanismenya masing-masing.

Peningkatan diameter zona hambat setelah penambahan waktu kontak (inkubasi) bakteri menunjukkan bahwa zat antibakteri memiliki efek toksisitas selektif yang bersifat bakterisid.¹⁷ Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji pinang memiliki efek toksisitas selektif bakterisid terhadap *S. aureus*.

Aktivitas penghambatan *S. aureus* oleh ekstrak etanol biji pinang disebabkan pengaruh senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu terbentuknya komponen jembatan silang peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan sel akan lisis.¹⁸ Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri akan pecah atau lisis.¹⁹ Tanin mempunyai target utama pada polipeptida dinding sel yang akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel.²⁰ Flavonoid merupakan senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengakibatkan perubahan komposisi fosfolipid membran, diikuti dengan pembengkakan dan dinding sel yang lisis.²¹ Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya protein.²²

Rerata diameter zona hambat setelah pemberian kloramfenikol 30µg/disk yaitu sebesar 30,59 mm. Berdasarkan *Clinical and Laboratory Standarts Institute* (CLSI) (2013),¹⁴ diameter zona hambat dari antibiotik kloramfenikol terhadap *S. aureus* masih tergolong sensitif (Tabel 4).

Tabel 4. Standar Interpretasi Diameter Zona Hambat untuk *Staphylococcus spp.*¹⁴

| Antimicrobial Agent | Disk Content | Zone Diameter Criteria | Diameter (mm) | | Interpretive | Comment |
|------------------------|--------------|------------------------|---------------|-----|--------------|--|
| | | S | I | R | R | |
| <i>Chloramphenicol</i> | 30 µg | ≥18 | 13-17 | ≤12 | | <i>Not routinely reported on isolates from the urinary tract</i> |

Keterangan: S = Sensitif, I = Intermediet, R = Resisten

Konsentrasi 3% adalah konsentrasi yang menghasilkan zona hambat paling besar dengan kategori aktivitas sedang, sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi 3% merupakan konsentrasi efektif dari semua variasi konsentrasi yang diujikan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Faozi (2013)²³ yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang disebabkan kandungan senyawa aktif biji pinang pada konsentrasi yang lebih tinggi lebih banyak dibanding konsentrasi yang lebih rendah.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol biji pinang mengandung fenol, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan alkaloid. Ekstrak etanol biji pinang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Berdasarkan hasil aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak etanol biji pinang, diperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *S. aureus* adalah 2% dengan rata-rata zona hambat 7,37 mm.

SARAN

Potensi antibakteri pada biji pinang perlu dikaji lebih lanjut dengan melakukan isolasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol biji pinang untuk mencari senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas dan uji farmakologi pada hewan coba untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) ditinjau dari sifat toksik dan farmakologinya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mardiasuti, H., Karuniawati, A., Kiranasari, A., Ikaningsih., Kadarsih, R. Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Maj. Kedokt. Indon.* 2007; 57(3): 75-79.
2. Adysaputra, S. Rauf, A. Bahar, B. Patterns and Prevalence of Nosocomial Microbial Infection from Intensive Care Unit Patients, Wahidin Sudirohusodo Hospital Makassar. *Indonesian Journal Of Medical Science* 2009; 2(2): 67-70.
3. Longo, D., Kasper, D., Faucy, A., Hauser, S. *Harrison`s Principles of Internal Medicine*. Ed ke-18. New York: McGraw-Hills Company Inc; 2012.
4. Cohen, J., Opal, S., Powderly, W. *Infectious Diseases Third Edition*. British: Mosby Elsevier; 2010.
5. Brooks, G.F., Carroll, K., Butel, J.S. *Jawetz, Melnick, & Adelberg`s Medical Microbiology*. Ed ke-26. Philadelphia: McGraw-Hill Company Inc; 2013.
6. Refdanita., Maksum, R., Nurgani, A., Endang, P. Faktor yang Mempengaruhi Ketidakesesuaian Penggunaan Antibiotika dengan Uji Kepekaan di Ruang Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan* 2004; 8(1): 21-26.
7. Agoes, A. *Tanaman Obat Indonesia Vol.V*. Jakarta: Salemba Medika; 2010.
8. Asdyaksa, H. Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Secara *In Vitro*. *Naskah Publikasi*. Jawa Tengah: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2013.
9. Oxoid Microbiology Product (OMP). *Dehydrated Culture Media*. New York: Thermo Fisher scientific Inc; 2012.
10. Gandasoebrata, R. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat; 2007.
11. Waluyo L. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press; 2008.
12. ICMR. Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious Diseases - An Update. *ICMR Bulletin* 2009; 39: 1-3.
13. Harley dan Prescott. *Laboratory Exercises in Microbiology*. Edisi ke-5. Philadelphia: The McGraw-Hill Companies; 2002.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement*. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
15. Monks, L.R., Lerner, C., Henriques, A.T., Farias, M., Schapoval, E.E.S., Suyenaga, E.S., Rocha, B., Schwartzmann, G., Mothes, B. Anticancer, antichemotactic and antimicrobial activities of marine

- sponges collected off the coast of Santa Catarina, southern Brazil. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 2002; 281: 1-12.
16. Katzung, B., Susan, B., Anthony, J. *Basic and Clinical Pharmacology*. Ed ke-12. New York: The McGraw-Hill Companies: 2012.
 17. Rahmawati, R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rhizoma Alang-Alang (*Imperata cylindrica* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Pontianak: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura: 2010.
 18. Robinson, T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4. Bandung: ITB Press; 1995.
 19. Poeloengan, M., Praptiwi. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Mangis (*Garcinia Mangostana* L.). *Media Litbang Kesehatan* 2010; 20: 69-75.
 20. Fahriya, P.S dan Shofi, M.S. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Universitas Diponegoro. Fakultas Teknik. Semarang: 2011.
 21. Kim, J.M., Marshall, M.R., Cornell, J.A., Boston, W. Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral and Geraniols Against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. *J. Food. Sci.* 1995; 69(6): 1365-1366.
 22. Cowan, M. Plants Products as Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Review* 1999; 12(4): 564-582.
 23. Faozi, G. Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In-Vitro*. *Skripsi*. Purwokerto: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Purwokerto: 2013.